



TITLE:

The Role of TEM-1 β -lactamase in the
Predominance of Ampicillin-Sulbactam-
Nonsusceptible *Escherichia coli* in Japan(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Noguchi, Taro

CITATION:

Noguchi, Taro. The Role of TEM-1 β -lactamase in the Predominance of Ampicillin-Sulbactam-Nonsusceptible *Escherichia coli* in Japan. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21958>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	野口 太郎
論文題目	The Role of TEM-1 β -lactamase in the Predominance of Ampicillin-Sulbactam-Nonsusceptible <i>Escherichia coli</i> in Japan （日本で増殖拡散しているアンピシリンースルバクタム非感受性大腸菌における TEM-1 型 β ラクタマーゼの役割）		
（論文内容の要旨）			
<p>アンピシリン・スルバクタム（SAM）は日常診療において広く使用されている β ラクタム・β ラクタマーゼ阻害薬合剤であるが、近年、同薬剤へ耐性を示す大腸菌が増加しており感染症治療を困難にしている。SAM への耐性機序として、AmpC などのスルバクタム（SBT）抵抗性 β ラクタマーゼ、本来 SBT で阻害される TEM-1 型 β ラクタマーゼの過剰産生が報告されているが、膜透過性の関与など他の因子に関する検証や、各耐性機構の頻度などの疫学的データが十分でない。また、耐性因子を有するプラスミドの伝播や菌株のクローン性増殖は耐性菌増加の原因であることが多いが、SAM 非感受性大腸菌における検討は未だなされていない。本研究では、日本国内における SAM 非感受性大腸菌の耐性機序とクローン性増殖の状況について検討した。</p> <p>2014 年 12 月の 1 か月間に急性期病院 10 施設で臨床分離された大腸菌 329 株に対して SAM 最小発育阻止濃度（MIC）測定、各 β ラクタマーゼ遺伝子の塩基配列解析、TEM-1 陽性株の接合伝達試験、TEM-1 活性の測定、TEM-1 活性に対する SBT の 50%阻害濃度測定、SBT の膜透過性評価、クローン同定を行った。</p> <p>対象となった大腸菌のうち 95 株（29%）が SAM 非感受性であった。TEM-1 は SAM 感受性株より非感受性株に多く検出された（56%対 18%）。非感受性株の保有する β ラクタマーゼのうち、SBT 抵抗性 β ラクタマーゼは 33%、過剰産生を促す変異型プロモーターを持つ TEM 型 β ラクタマーゼは 5%であった。残りの 62%は本来 SBT に阻害される β ラクタマーゼのみを保有し、うち野生型プロモーターを持つ TEM-1 が 41 株（72%）と最多であった。</p> <p>TEM-1 保有株をドナー株として接合伝達試験を行った。96 株のドナー株から 45 株（47%）の接合伝達株が得られ、プラスミドの不和合性グループは IncF が 89%を占めた。これらの可動性因子による TEM-1 遺伝子の水平伝播が高頻度である可能性が示唆された。その接合伝達株全てがレシピエント株より高い SAM MIC を示した。β ラクタマーゼとして TEM-1 のみを持つドナー株と接合伝達株、それぞれ 32 株の β ラクタマーゼ活性は SBT の 50%阻害濃度、さらに SAM MIC と正の相関関係にあったことから、TEM-1 活性が SAM 耐性に寄与していることが示唆された。一方で、上記相関関係から逸脱する株もあり、TEM-1 以外の耐性機序として宿主細胞に関連する要因を疑った。そこで評価した SBT の膜透過性は SAM MIC と負の相関関係にあった。膜透過性の低下は膜タンパク OmpF 欠損と関連があり、OmpF 欠損株は TEM-1 のみを産生する SAM 非感受性株 29 株のうち半数以上（57%）を占めた。</p> <p>薬剤耐性大腸菌拡大の要因となっている大腸菌クローン ST131 は SAM 非感受性株の 52%を占め最多であった。また、ST131 クローンでは TEM-1 保有株が 44%と多く認められた。</p>			

<p>SAM 非感受性大腸菌の耐性機序として、非過剰型の TEM-1β ラクタマーゼ産生と膜タンパク欠損による膜透過性低下の複合的要因と考えられる株が最も多いことが明らかとなった。SAM 非感受性大腸菌の増加原因としては、高頻度に伝達されうる TEM-1 保有プラスミド等の可動性因子の水平伝播や、高い TEM-1 保有率と SAM 非感受性という特徴を持つ ST131 のクローン性増殖が寄与していることが示唆された。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>大腸菌感染症の治療に頻用されているアンピシリンースルバクタム（SAM）に非感受性を示す大腸菌が増加している。SAM 非感受性大腸菌の薬剤耐性機序と増加要因について検討した。</p> <p>対象とした臨床分離大腸菌計 329 株のうち、95 株（29%）が SAM 非感受性であった。SAM 非感受性株の保有する β ラクタマーゼの中で TEM-1 は最も多く、感受性株よりも頻度が高かった（56%対 18%、$p<0.01$）。TEM-1 保有株をドナーとした接合伝達試験で得られた 45 株（47%）の接合伝達株全てにおいて、TEM-1 獲得前よりも SAM の最小発育阻止濃度（MIC）が上昇していた。さらに、TEM-1 活性と SAM-MIC は相関関係にあった。SAM 非感受性株の Sequence type（ST）のうちで 52%と最多であった大腸菌クローン ST131 では、TEM-1 保有株が ST131 以外の ST より多く認められた（44%対 22%、$p<0.01$）。</p> <p>これらの結果から、TEM-1 は大腸菌における SAM 非感受性に寄与していること、また、SAM 非感受性大腸菌増加の原因として、TEM-1 を有する可動性因子の菌株間の伝播と TEM-1 陽性率の高い ST131 のクローン性増殖が寄与していることが明らかとなった。</p> <p>以上の研究は SAM 非感受性大腸菌における耐性機序および増加要因の解明に貢献し、薬剤耐性大腸菌の微生物学的理解と制御に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 3 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降